

Miješani lipidni monoslojevi za elektrokemijsko detektiranje lipofilnih vodenih zagađivala i toksina

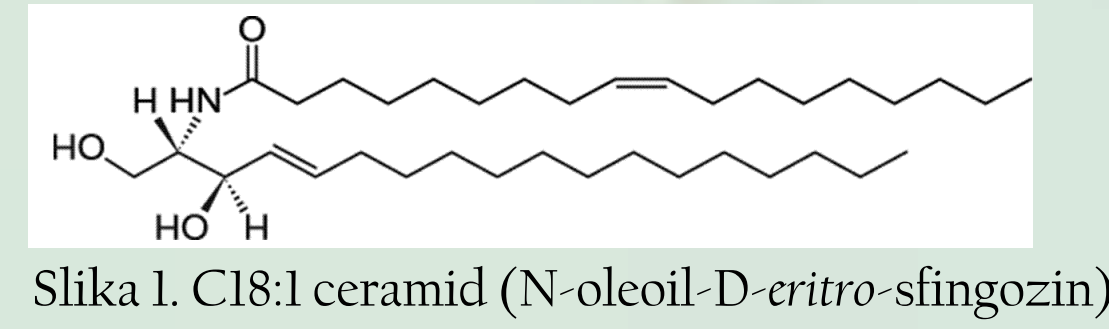
Mixed lipid monolayers used to electrochemically detect lipophilic aquatic pollutants and toxins

Abra Penezić^a, Blaženka Gašparović^a, Zachary Coldrick^b, Andrew L. Nelson^b

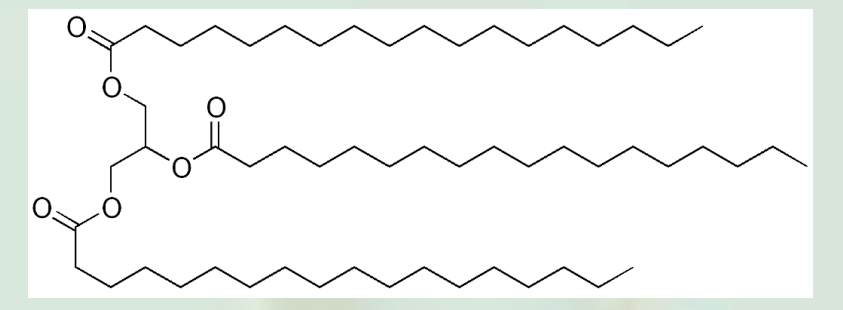
^aRuđer Bošković Institute, Bijenička 54, POB 180, HR-10002 Zagreb, Croatia, Centre for Molecular Nanoscience (CMNS), School of Chemistry, University of Leeds, Leeds, LS2 9JT, UK
abra.penezic@irb.hr

1. Uvod

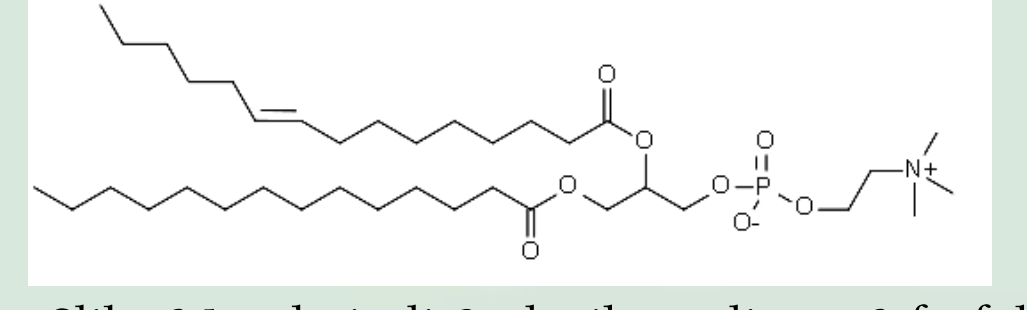
Zbog svakodnevnog pojačanog zagađenja u svijetu postoji velika potreba za razvijanjem biosenzora koji bi u kratkom vremenu, uz reproducibilne i pouzdane rezultate, mogli pružiti informaciju o prisutnosti potencijalnih zagađivala i toksina u moru i vodi za piće. Upravo iz tog razloga razvija se *in-situ* senzor za zagađivala poput *policikličkih aromatskih ugljikovodika*, *organokloriranih spojeva*, *pesticida*, *biocida*, te toksina poput *domoične* i *okadaične kiseline*. Spomenuti spojevi pokazuju membransku aktivnost što je karakteristika korištena u razvoju elektrokemijskog biosenzora sa lipidnim monoslojem adsorbiranim na visećoj živinoj elektrodi kao što je predložio Nelson [1]. Interakcija između molekula analita i lipidnog monosloja dovodi do narušavanja organizacije monosloja na točno određen način i prati se elektrokemijski. Ispitana je interakcija jednog od predstavnika policikličkih aromatskih ugljikovodika, fenantrena, sa miješanim lipidnim monoslojevima ceramida (Slika 1) sa tristearinom, trigliceridom stearinske kiseline (Slika 2), te 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfokolina (POPC) (Slika 3) sa trioleinom, trigliceridom oleinske kiseline (Slika 4).



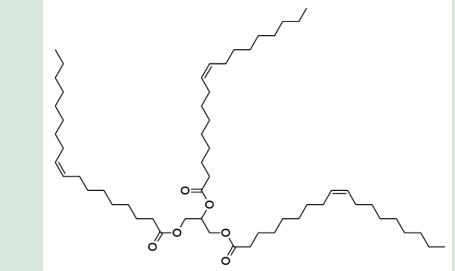
Slika 1. C18:1 ceramid (N-oleoil-D-eritro-sfingozin)



Slika 2. Tristearin



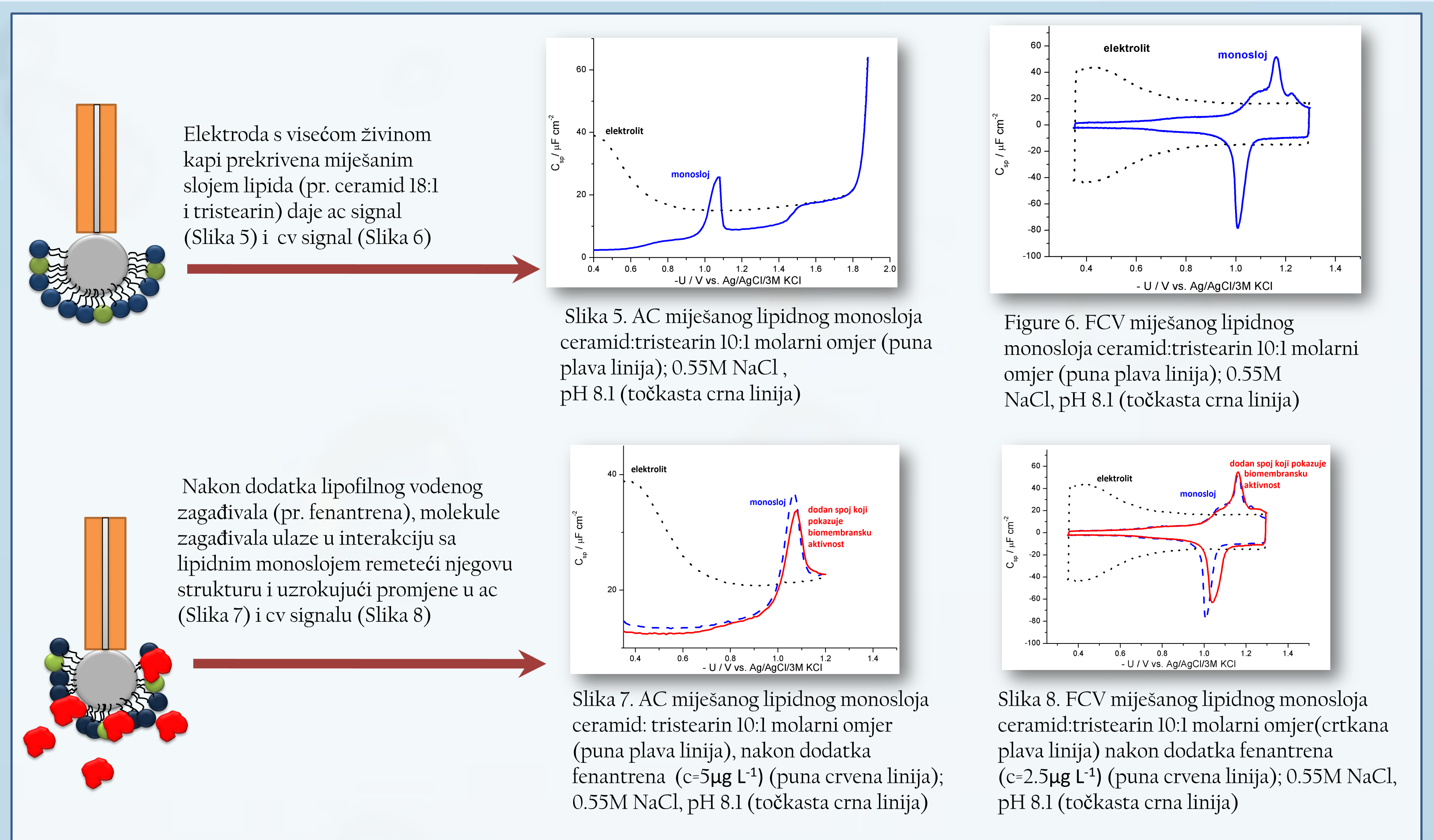
Slika 3.1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfokolin



Slika 4. Triolein

2. Metode

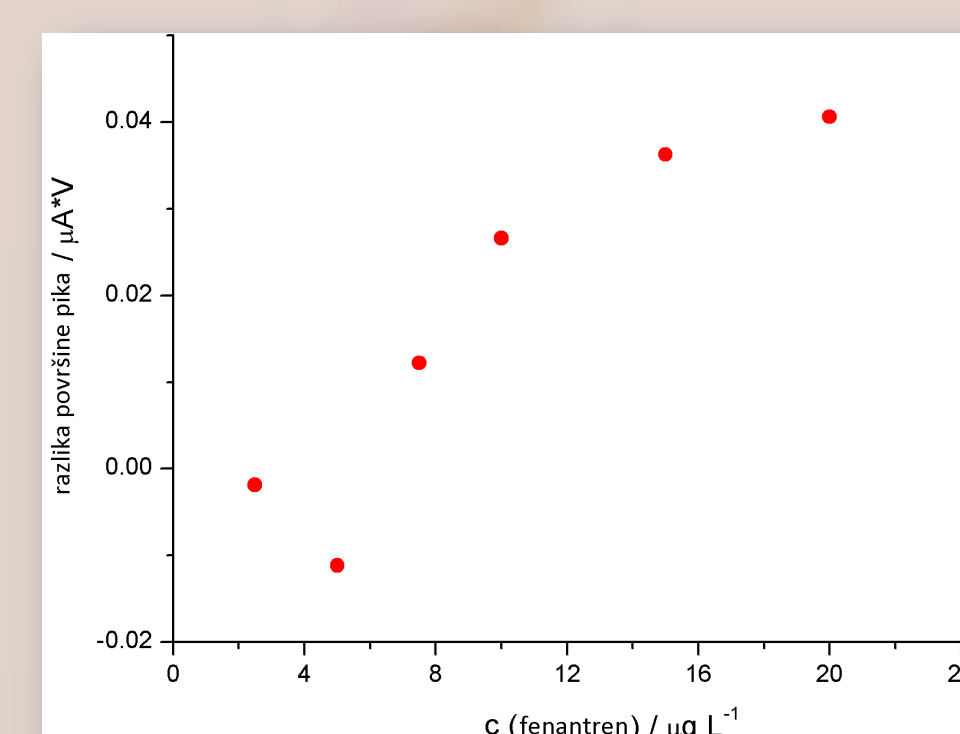
Za mjerenja je korišten troelektrodni sustav sa visećom živinom kapi kao radnom elektrodom, Ag/AgCl/3 mol L⁻¹ KCl kao referentnom elektrodom, dok je platinska žica korištena kao protuelektroda. Mjerenja su vršena pomoću IVIUM potencioštata. Korištene metode: AC voltametrija izvan faze – brzina skeniranja 10 mV s⁻¹; amplituda 10 mV; frekvencija 75. Hz; fazni kut 90⁰ (Slike 5 i 6); Brza ciklička voltametrija (FCV): brzina skeniranja 40Vs⁻¹ (Slike 7 i 8). Sva mjerenja izvođena su u elektrolitu, 0.55M NaCl, čiji je pH 8.1 održavan natrijevim bikarbonatom.



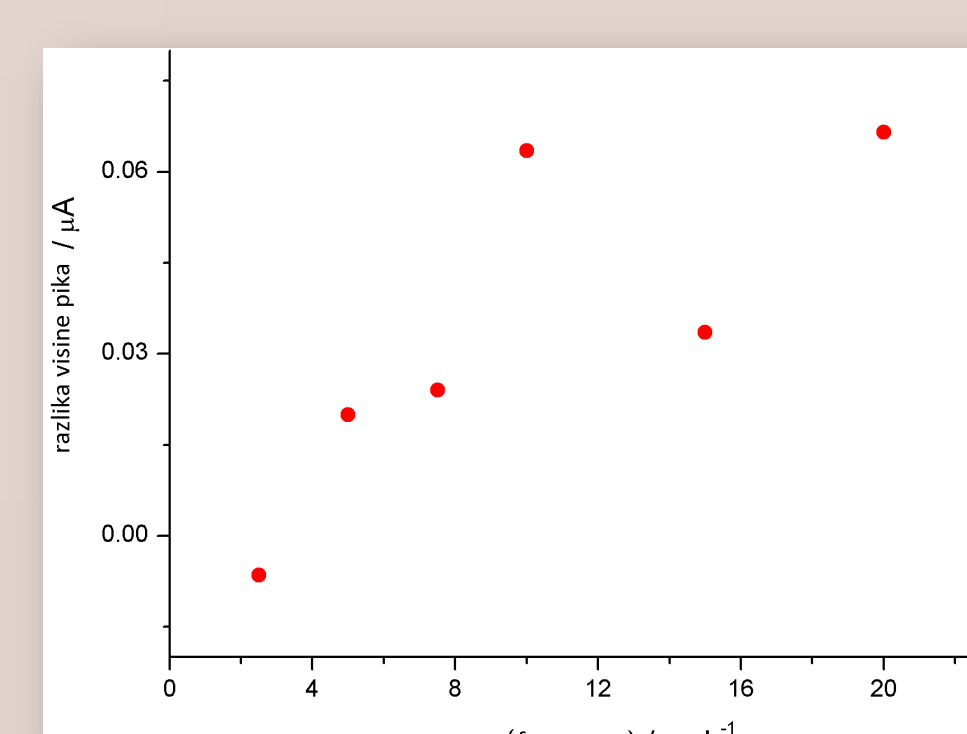
3. Rezultati

U svrhu pronalaženja miješanog lipidnog monosloja koji bi specifično i dovoljno osjetljivo reagirao sa molekulama odabranog analita isprobane su mješavine ceramida sa tristearinom u različitim omjerima. Slojevi su testirani tako da je interakcija sa fenantrenom detektirana tek nakon 5 minuta akumulacije, ne bi li se na taj način poboljšala sama osjetljivost metode. Interakcija je opažena kroz promjenu reorijentacijskog pika ispitivanog sloja. Najreproducibilnijom i najosjetljivijom pokazala se mješavina ceramida i tristearina u molarnom omjeru 10:1, te je zabilježena linearna ovisnost visine i površine reorijentacijskog pika o koncentraciji fenantrena (Slike 9 i 10). Granica detekcije ovog monosloja određena je na 2 μg L⁻¹ fenantrena.

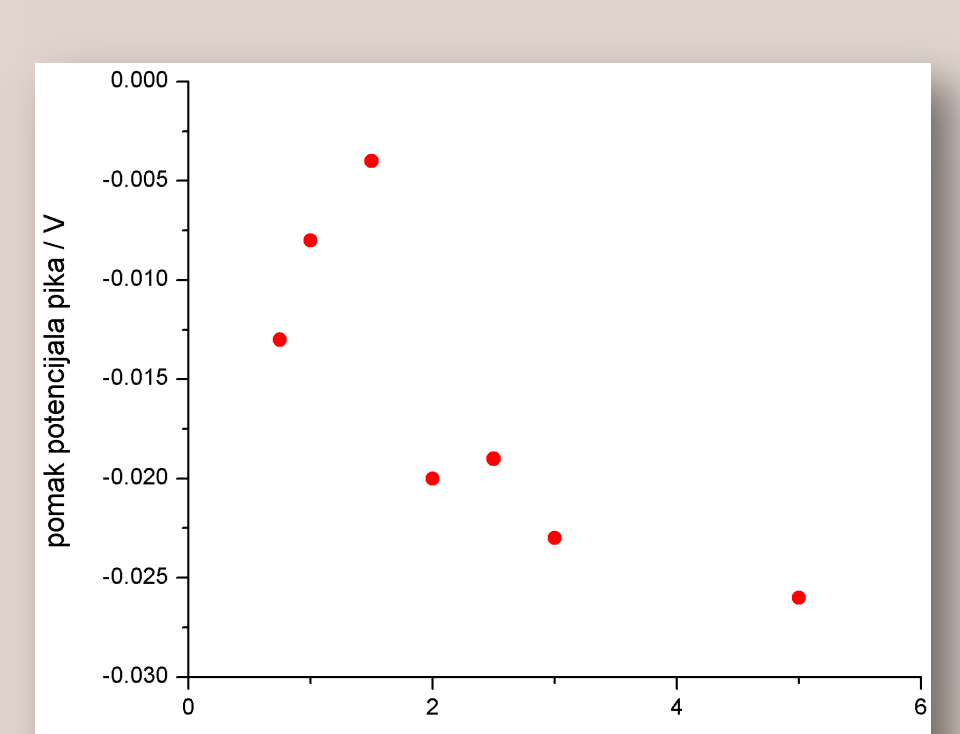
Osjetljivost je poboljšana upotrebom miješanog sloja POPC i trioleina u molarnom omjeru 3:1, gdje je zabilježena linearna ovisnost položaja reorijentacijskog pika o koncentraciji fenantrena kod ac voltametrije (Slika 11), te linearna ovisnost položaja, površine i visine pika kod cikličke voltametrije (Slike 12, 13 i 14). Granica detekcije ovog monosloja određena je na 0.75 μg L⁻¹



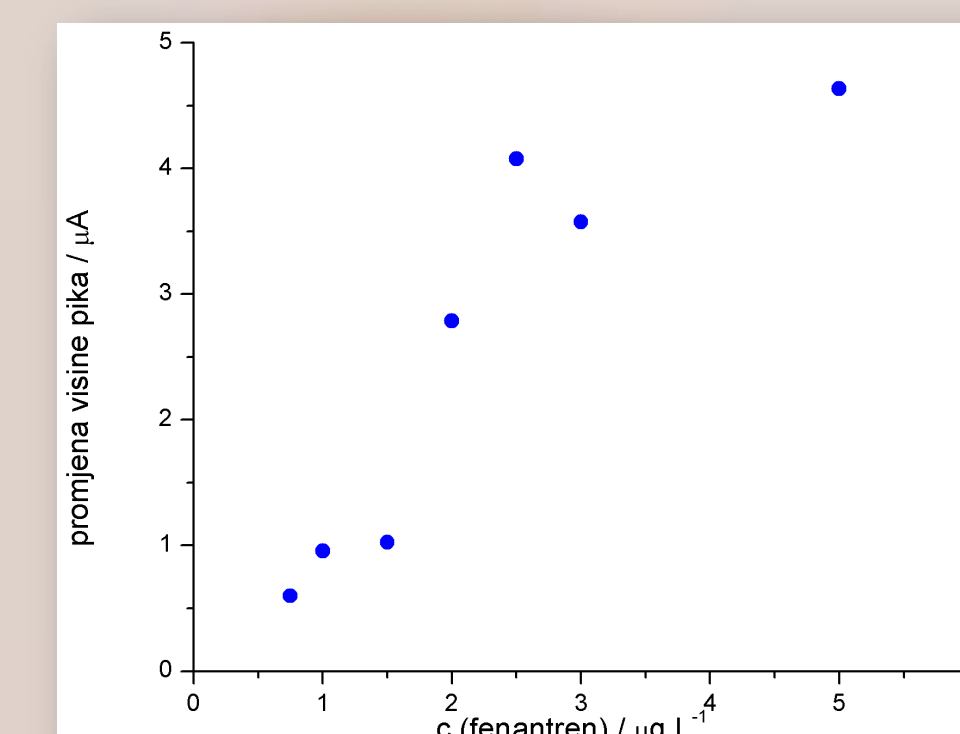
Slika 9. Promjena površine pika miješanog lipidnog monosloja ceramid:tristearin (10:1 molarni omjer) nakon dodatka fenantrena; AC podaci



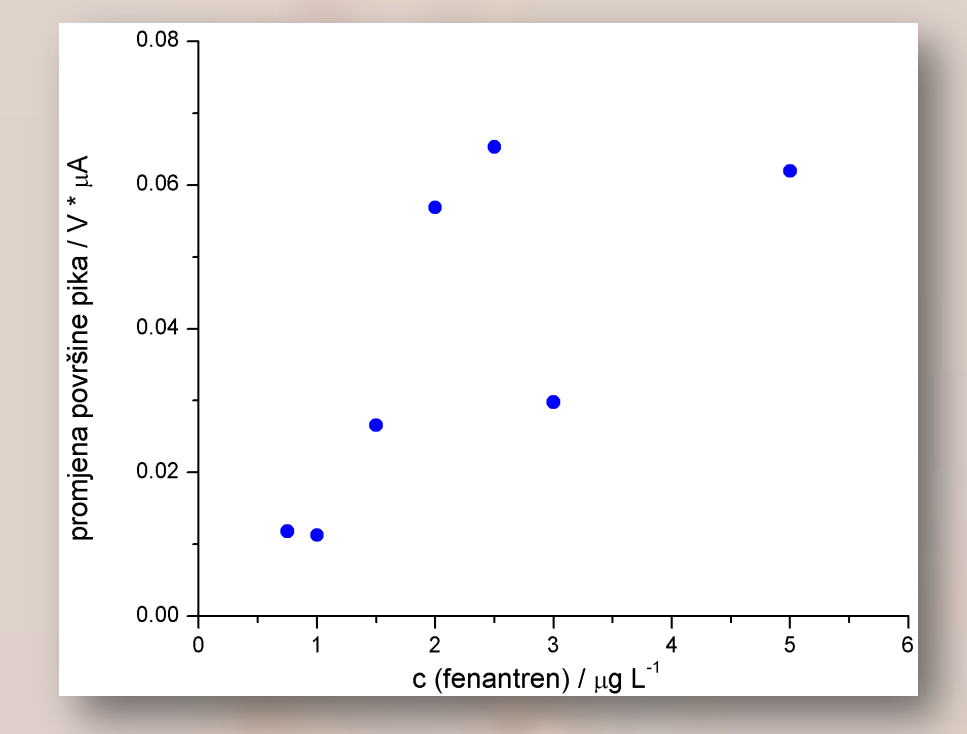
Slika 10. Promjena visine pika miješanog lipidnog monosloja ceramid:tristearin (10:1 molarni omjer) nakon dodatka fenantrena; FCV podaci



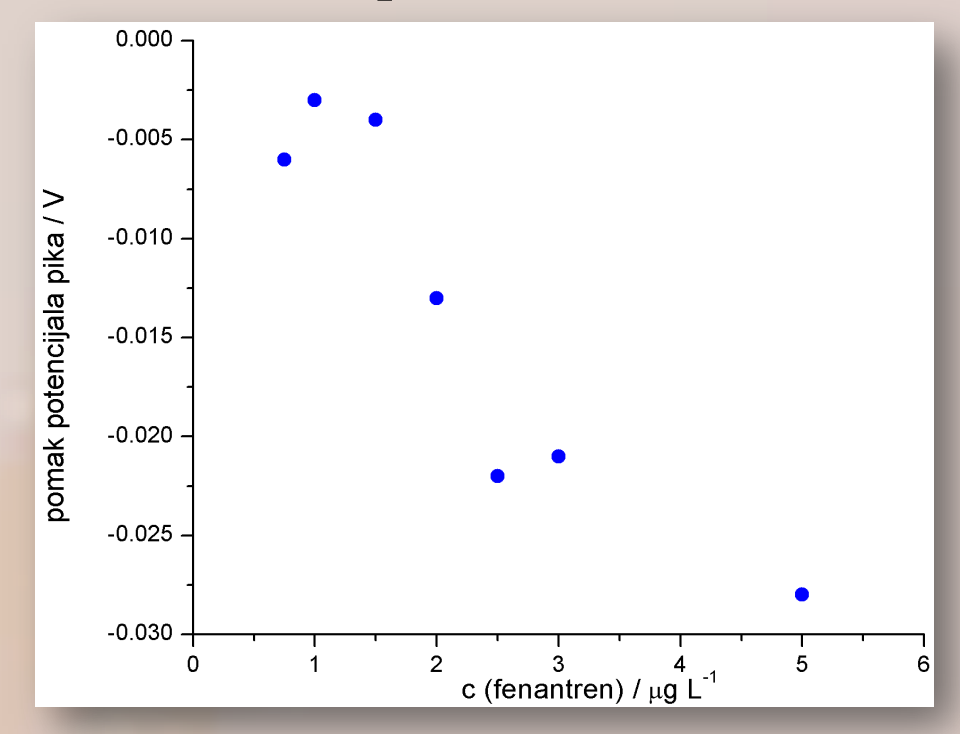
Slika 11. Pomak potencijala pika miješanog lipidnog monosloja POPC:triolein (3:1 molarni omjer) nakon dodatka fenantrena; AC podaci



Slika 12. Promjena visine pika miješanog lipidnog monosloja POPC:triolein (3:1 molarni omjer) nakon dodatka fenantrena; FCV podaci



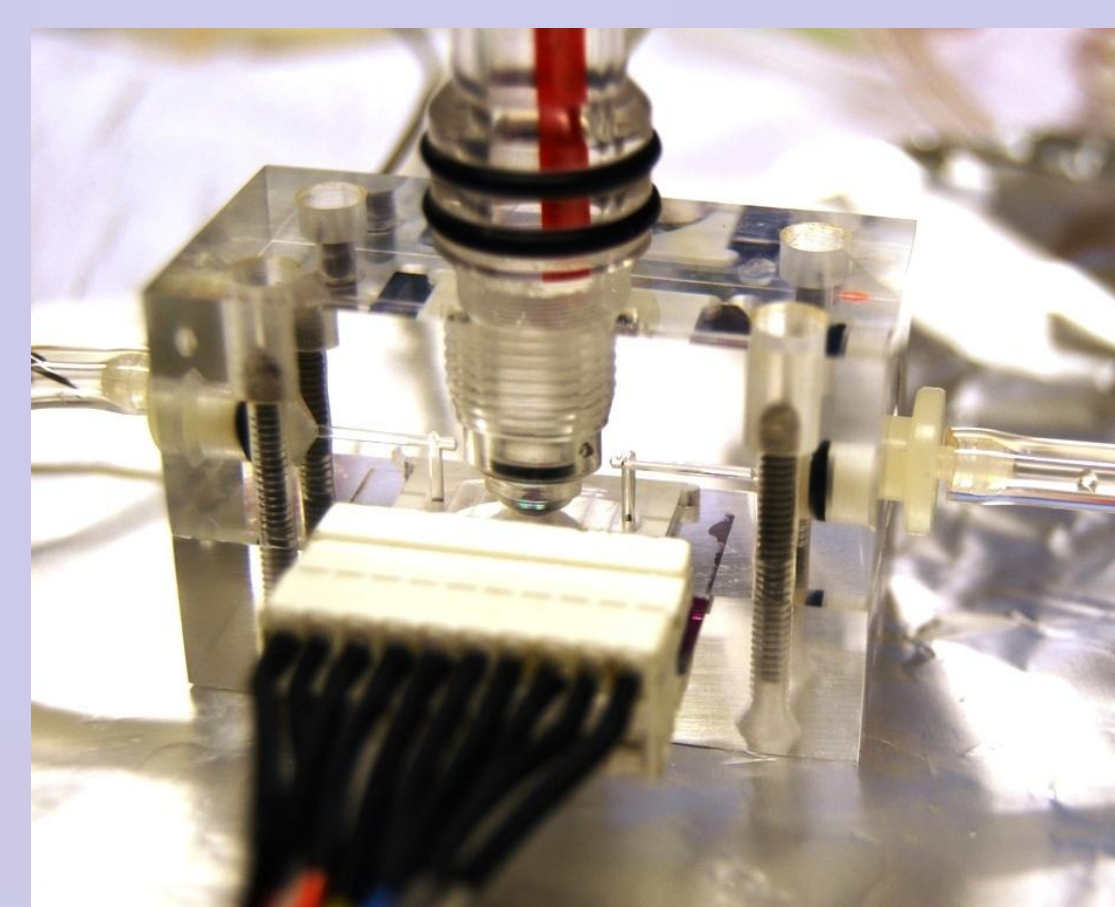
Slika 13. Promjena površine pika miješanog lipidnog monosloja POPC:triolein (3:1 molarni omjer) nakon dodatka fenantrena; FCV podaci



Slika 14. Pomak potencijala pika miješanog lipidnog monosloja POPC:triolein (3:1 molarni omjer) nakon dodatka fenantrena; FCV podaci

4. Daljnje istraživanje

Dosadašnji rad pokazao je mogućnost upotrebe miješanih lipidnih monoslojeva za detekciju biomembranski aktivnih tvari, pogotovo policikličkih aromatskih ugljikovodika. Za detekciju drugih klasa zagađivala sloj će biti potrebno modificirati u skladu s karakteristikama promatranog analita. Slijedeći korak u istraživanju jest fokusiranje na upotrebu monoslojeva u micelarnom obliku, kako bi ih se moglo koristiti za upotrebu na živinim elektrodama na čipu inkorporiranih u protočnoj ćeliji (Slika 15).



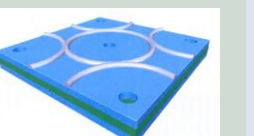
Slika 15. Protočna ćelija sa živinim elektrodama na čipu i vanjskom referentnom elektrodom

Reference

1. A. Nelson, *Anal. Chim. Acta* 194 (1987), p. 139.
2. Z. Coldrick, P. Stenson, P. Millner, M. Davies, A. Nelson, *Electrochimica Acta*, 2009, 54, 4952.

Zahvale

Autori bi željeli zahvaliti na financiranju osiguranom od strane Nato SFP nagrade, br. projekta: 983147 te Ministarstvu znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske, br. projekta: 098-0982934-2717.



<http://www.chem.leeds.ac.uk/biosens/index.html>